

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.
Vol. 19, 1981, pp. 179–189

Alkohol-metabolisierende Enzyme: Eigenschaften, genetisch bedingte Heterogenität und Bedeutung für den Alkoholstoffwechsel des Menschen

Von *H. W. Goedde* und *D. P. Agarwal*

Institut für Humangenetik der Universität Hamburg

(Eingegangen am 24. Juni/25. November 1980)

Herrn Prof. Dr. Dr. E. Freerksen anlässlich seines 70. Geburtstages gewidmet

Zusammenfassung: In jüngster Zeit wurden Enzymvarianten der Alkoholdehydrogenase und Aldehyddehydrogenase beschrieben, die für den Alkoholstoffwechsel von genereller Bedeutung sind. Ein intensives Studium dieser Alkohol-metabolisierenden Enzyme wurde dadurch ermöglicht, daß besonders sensitive Methoden entwickelt wurden, die durch Bestimmung der Isoenzyme eine Phänotypisierung in verschiedenen menschlichen Organen, Haut, Fibroblastenkulturen und auch Haarwurzeln durchführen lassen. Aufgrund der Ergebnisse formal- und populationsgenetischer Studien an europiden und mongoliden Populationen wird eine Hypothese zur Erklärung unterschiedlicher Intoxikationsreaktionen nach Alkoholgenuß diskutiert.

Alcohol metabolizing enzymes: Biochemical properties, genetic heterogeneity and their possible role in alcohol metabolism in humans

Summary: Recent studies on the polymorphism of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase indicate a possible implication of enzyme variants in the metabolism and effects of ethanol. The development of highly sensitive analytical methods enabled us to study isozymes of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase in various organ extracts, skin, fibroblast and hair root lysates. The results of family and population genetic studies in different racial groups led to a hypothesis, which may explain the observed high incidence of alcohol sensitivity among Mongoloid populations.

Einführung

Alkoholismus ist eine „fortschreitende“ Krankheit, die mit Alkoholmißbrauch, physischer und psychischer Abhängigkeit, sozialen und familiären Problemen verbunden ist. Alkoholabhängigkeit zählt heute zu den größten öffentlichen Gesundheitsproblemen unserer Gesellschaft. Die Alkoholkrankheit wird z. Zt. unter verschiedenen Aspekten in der klinischen Pharmakologie, Psychiatrie, Genetik, Biochemie und Rechtsmedizin untersucht. Die Rolle der verschiedenen ökologischen und genetischen Faktoren, die den Alkoholismus beeinflussen, sowie die enzymatischen Mechanismen und ihre biochemisch genetischen Grundlagen werden bislang erst teilweise verstanden.

Genetische und ökologische Aspekte

Seit langem ist bekannt, daß nicht allein Umwelteinflüsse und soziale Verhältnisse für Alkoholismus und Alkoholabhängigkeit verantwortlich sind, sondern auch

genetische Faktoren eine wesentliche Rolle spielen. Unterschiede in Abbaugeschwindigkeit und Alkohol-unverträglichkeitsreaktionen sind in verschiedenen Bevölkerungen erstaunlich hoch (1–4). Untersuchungen bei Alkoholikern und deren Familien zeigen eine Häufung von Alkoholismus.

Arbeiten von Goodwin et al. (5) haben in diesem Zusammenhang gezeigt, daß genetische Faktoren eine wichtige Rolle spielen. In einer Studie in Dänemark wurden 133 männliche Probanden untersucht, die von ihren biologischen Eltern wenige Wochen nach ihrer Geburt getrennt und dann adoptiert worden waren: 55 hatten einen biologischen Elternteil, der Alkoholiker war, 78 Probanden stammten von Nicht-Alkoholikern ab. Die Trinkgewohnheiten waren in beiden Probandengruppen gleich stark. Die Häufigkeit von Alkoholismus war aber fast viermal größer in der Gruppe, in der die Eltern alkoholabhängig waren. Die mögliche Beeinflussung der Probanden durch alkoholabhängige Pflegeeltern auf die Entwicklung von Alkoholismus wurde auch untersucht

(6). Demnach scheint eine Erbllichkeit von Alkoholismus nur aufzutreten, wenn bei den biologischen Eltern Alkoholismus vorliegt und nicht mit einer Alkoholabhängigkeit der Adoptiv Eltern zusammenzuhängen.

Heritabilitätswerte wurden aufgrund von Zwillingsuntersuchungen zu etwa 0,9 bestimmt (7). Eine erbliche Prädisposition kann u. a. den Metabolismus von Ethanol und Acetaldehyd, eine erhöhte Suszeptibilität für Intoxikationen und Lebercirrhose, zelluläre Adaptation des Zentralnervensystems sowie eine Interaktion von Alkohol mit Pharmaka beeinflussen.

Pharmakologische Aspekte

Bei verschiedenen Ethanolkonzentrationen konnten *Korsten et al.* (8) feststellen, daß Nicht-Alkoholiker eine niedrigere Acetaldehydkonzentration im Blut besitzen als Alkoholiker; diese Beobachtung war unabhängig von der Alkoholkonzentration. Ob dies auf einen schnelleren Alkoholabbau bei Alkoholikern zurückzuführen ist, konnte zunächst nicht erklärt werden; auch ein langsamerer Abbau des Acetaldehyds wurde in Erwägung gezogen.

Im allgemeinen liegen über den Acetaldehydmetabolismus weniger Untersuchungen vor als über den Alkoholabbau. Von *Raskin* (9) und *Davis & Walsh* (10) sowie *Truitt* (11) wurde eine Erhöhung der Acetaldehydkonzentration mit zunehmender Alkoholverabreichung im Zusammenhang mit der sog. Alkoholabhängigkeit bei Alkoholikern beobachtet.

Acetaldehyd-Intoxikationen wurden auch im Zusammenhang mit einer bei erhöhter Alkoholaufnahme toxischen Wirkung auf den Gehirnstoffwechsel diskutiert (12). *Majchrowicz* (13) beschrieb eine Hemmung der oxidativen Decarboxylierung in Gehirnmitochondrien; *Duritz & Truitt* (14) diskutierten eine Stimulierung der Epinephrin-Freisetzung aus den neuronalen Speicherdepots durch Acetaldehyd. Auch eine Inhibitorwirkung des Acetaldehyds auf ein Enzym, das für den Neurotransmitterstoffwechsel im Gehirn von Bedeutung ist, sowie ein Anstau nicht umgesetzter, sog. Neurotransmitter-Aldehyde wurden in Erwägung gezogen; auch die Bildung von Tetrahydroisochinolin-Derivaten, potenten psychoaktiven Substanzen, wurde im Zusammenhang mit Abhängigkeit vom Alkoholgenuß diskutiert (10, 15). Kürzlich wurde berichtet, daß Alkoholintoxikationssymptome nach Freisetzung von Enkephalinen und Endorphinen, die morphinartige Aktivitäten zeigen, auftreten können (16). Eine Verabreichung von Naloxon, eines Opiatantagonisten, verhinderte die Schwächung der durch Alkohol hervorgerufenen psychomotorischen Erscheinungen bei männlichen Probanden. Es ist daher möglich, daß Alkohol durch Freisetzung morphinartiger Peptide Intoxikationen hervorruft.

Ebenfalls von Interesse sind Untersuchungen von *Asmussen et al.* (17), die nach Verabreichen von Acetaldehyd Alkoholintoxikationsphänomene feststellten. Ein

Argument gegen die pathogene Rolle des Acetaldehyds bei Alkoholkrankheiten ist, daß die Konzentration des Acetaldehyds im Blut in der Größenordnung von 1/1000 der des Ethanols liegt und man nur dann höhere Acetaldehydkonzentrationen erhält, wenn die Oxidation des Acetaldehyds durch Substanzen wie Disulfiram gehemmt wird (8, 18). Bekanntlich variiert die Konzentration des Acetaldehyds im Blut im allgemeinen nicht allzu stark und ist unabhängig vom Grad der Alkoholintoxikation. Die Abbaurate des Alkohols in Abhängigkeit von der Konzentration im Gewebe ist relativ konstant, da die Alkoholdehydrogenase der Leber bei sehr niedrigen Konzentrationen von Ethanol bereits gesättigt ist. In diesem Zusammenhang erscheinen die oben erwähnten Ergebnisse von *Korsten et al.* (8) besonders wichtig — auch hinsichtlich der Dosis-Wirkung bei Alkoholintoxikationen.

In der vorliegenden Arbeit wird zusammenfassend über biochemisch-genetische Eigenschaften Alkohol-metabolisierender Enzyme und deren Bedeutung für Alkoholunverträglichkeit und Alkoholismus berichtet. Mit Hilfe besonders empfindlicher Methoden wird der Nachweis von Alkoholdehydrogenase- und Aldehyddehydrogenase-Varianten in verschiedenen Organen, Blut, Haut und Fibroblastenkulturen erbracht. Möglichkeiten der Phänotypisierung der Enzymvarianten in menschlichen Haarwurzeln werden mitgeteilt sowie erste Befunde zur Genetik beider Enzyme, die durch Stichproben- und Familienuntersuchungen in verschiedenen Bevölkerungen ermittelt wurden. Ferner wird eine Hypothese diskutiert, die wesentlich zur Erklärung der in mongolischen Populationen beobachteten, besonders starken Empfindlichkeit gegen Alkohol beiträgt.

Verschiedene Abbaureaktionen des Alkohols

Ethanol wird vornehmlich in der Leber oxidativ abgebaut; Lunge und Nieren sind kaum am Alkohol-Metabolismus beteiligt. Es wird angenommen, daß 90–98% des dem Organismus zugeführten Alkohols total verstoffwechselt wird. Der Hauptabbaupfad verläuft über eine oxidative Umsetzung des Alkohols zum Acetaldehyd, die durch Alkohol-Dehydrogenase (EC 1.1.1.1), ein Zink enthaltendes Enzym, katalysiert wird; Coenzym ist NAD (Abb. 1). Die Reaktionsgeschwindigkeit wird durch große Alkoholkonzentrationen nicht sehr stark beschleunigt. Die weitere Umsetzung des Acetaldehyds zu Acetyl-Coenzym A scheint im Säugetierorganismus über zwei Wege möglich:

1. Oxidation durch Aldehyd-Dehydrogenase (EC 1.2.1.3) zu Acetat und dessen Umsetzung zu Acetyl-Coenzym A durch Thiokinase; ein weiteres Molekül NAD wird beim Abbau des Aldehyds benötigt. Das gebildete Acetyl-Coenzym A wird über den Citronensäure-Zyklus, den Fettsäure-Zyklus oder über die Cholesterin-Synthese verstoffwechselt.

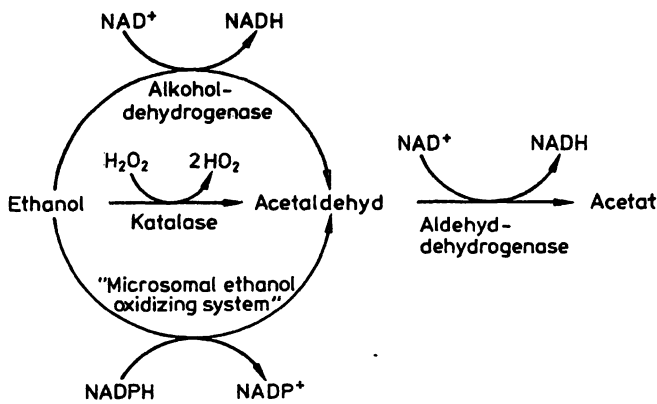


Abb. 1. Hauptabbauwege des Ethanols.

2. Durch Abbau mittels des Pyruvat-Dehydrogenase-Komplexes über eine Hydroxyethylthiaminpyrophosphat-Zwischenverbindung (19). Alkohol wird auch von den mikrosomalen Enzymen der Leber umgesetzt (20, 21). Die prozentuale Beteiligung des „microsomal ethanol oxidizing system“ und der Katalase ist nicht genau bekannt. Eine Konkurrenz beider Abbauwege wurde auch bezüglich des Substrats beschrieben (22, 23).

Isoenzyme der Alkoholdehydrogenase (Polymorphismus und Organspezifität)

Alkoholdehydrogenase (ADH) besitzt eine Dimer-Struktur, die durch Kombination dreier Untereinheiten (α , β und γ) entsteht; die entsprechenden Dimere werden als ADH_1 , ADH_2 und ADH_3 bezeichnet. Diese lassen sich nur teilweise nach Auftrennung der verschiedenen Isoenzyme mittels Elektrophorese erkennen (24–31). Ihre Synthese wird durch drei unterschiedliche Genloci kontrolliert, wobei nur für die beiden letzteren (ADH_2 , ADH_3) ein Polymorphismus nachweisbar ist. Zwei Allele am ADH_2 bzw. ADH_3 -Locus ergeben die folgenden Allotypen: ADH_2^1 , ADH_2^2 , ADH_3^1 und ADH_3^2 (Abb. 2).

Unabhängig von der Existenz dieser multiplen molekularen Formen der Leber-Alkoholdehydrogenase des Menschen wurde zuerst durch Arbeiten von Wartburgs et al. (32, 33) und Fukui et al. (34) ein Polymorphismus der Alkoholdehydrogenase nachgewiesen. Die variante Form wurde als „atypische Alkoholdehydrogenase“ bezeichnet und unterscheidet sich von der „normalen“ bezüglich spezifischer Aktivität, Substratspezifität, Sensitivität gegen bestimmte metallbindende Reagenzien, usw.; Thioharnstoff hemmt die atypische Variante, aktiviert dagegen das normale Enzym. Die spezifische Aktivität der atypischen Varianten ist etwa 6fach höher als die des normalen Enzyms; das pH-Optimum des normalen Enzyms ist 10,8, das der atypischen Varianten 8,5 (32, 33). Smith et al. (24, 25) zeigten, daß das atypische Enzym eine veränderte β -Untereinheit (ADH_2 -Locus) besitzt. Durch Bestimmung des Quotienten der bei pH 8,8 bzw. bei pH 11,0 gemessenen Aktivitäten läßt sich die atypische Variante vom normalen Enzym

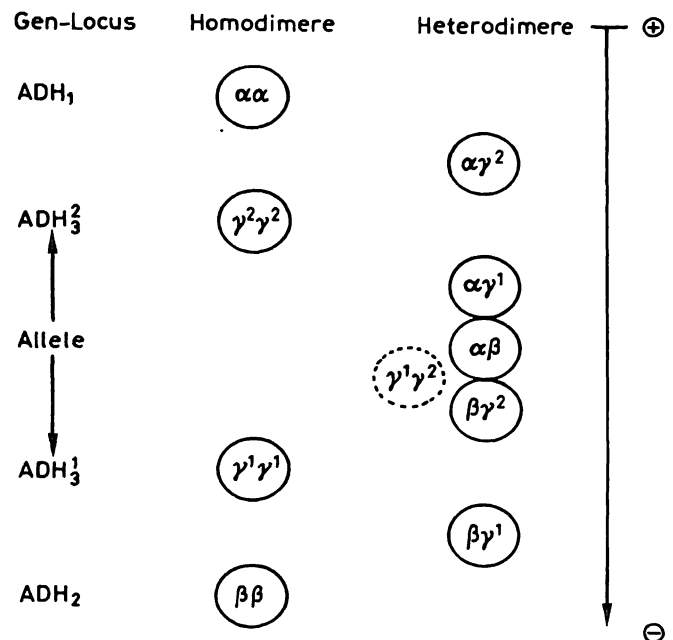


Abb. 2. Schematische Darstellung der elektrophoretisch aufgetrennten Isoenzyme (Untereinheiten) der menschlichen Leber-Alkoholdehydrogenase.

differenzieren (32). Stamatoyannopoulos et al. (35) beschrieben elektrophoretische Untersuchungen über Alkoholdehydrogenase-Isoenzyme aus menschlicher Leber; jedoch gelang ihnen keine Unterscheidung zwischen homozygoten (ADH_2^2/ADH_2^2) und heterozygoten (ADH_2^1/ADH_2^2) Isoenzymen. Die in Abbildung 3 wiedergegebenen Pherogramme wurden bei hohen Stromstärken mit Hilfe der Stärkegelelektrophorese erhalten; eine ähnliche Auftrennung der Isoenzyme ließ sich durch Isoelektrofokussierung im pH-Bereich 9–11 darstellen (36). Jedes Isoenzym zeigt Homo- und Heterodimere, die aus verschiedenen Polypeptid-Untereinheiten (α , β und γ) bestehen.

Es erschien zunächst nicht sicher (30), ob die β -Isoenzyme bei sog. atypischer Alkoholdehydrogenase ein Gemisch von $\beta_1\beta_2$ und $\beta_2\beta_2$ darstellen würden oder ob sie nur Heterodimere ($\beta_1\beta_2$) seien. Aus der Abbildung 3 läßt sich nun erkennen, daß diese sog. β -Isoenzyme ($\beta_1\beta_1$, $\beta_1\beta_2$, $\beta_2\beta_2$) nach Auftrennung in der Stärkegel-Hochspannungselektrophorese gut voneinander zu unterscheiden sind; die Abbildung zeigt das sog. atypische β -Isoenzym, nämlich den heterozygoten Phänotyp, mit β_1 - und β_2 -Untereinheiten. Die sog. atypische Alkoholdehydrogenase erscheint unter unseren Versuchsbedingungen ähnlich wie von Smith et al. (25) beschrieben. Im anodischen Bereich des Gels erkennt man noch zwei zusätzliche Banden (36), von denen die eine das Lactatdehydrogenase-Isoenzym LDH 5 darstellt, die andere bislang nicht identifiziert werden konnte. Von Li & Magnes (37) wurde in frischen Leberbiopsieproben ebenfalls eine zusätzliche, mehr im anodischen Bereich zu beobachtende Alkoholdehydrogenase-Bande beschrieben. In verschiedenen Organen konnten mit Hilfe der oben geschilderten Methoden die in Leber erkennbaren Isoenzyme der Alkoholdehydrogenase nur zum Teil nach-

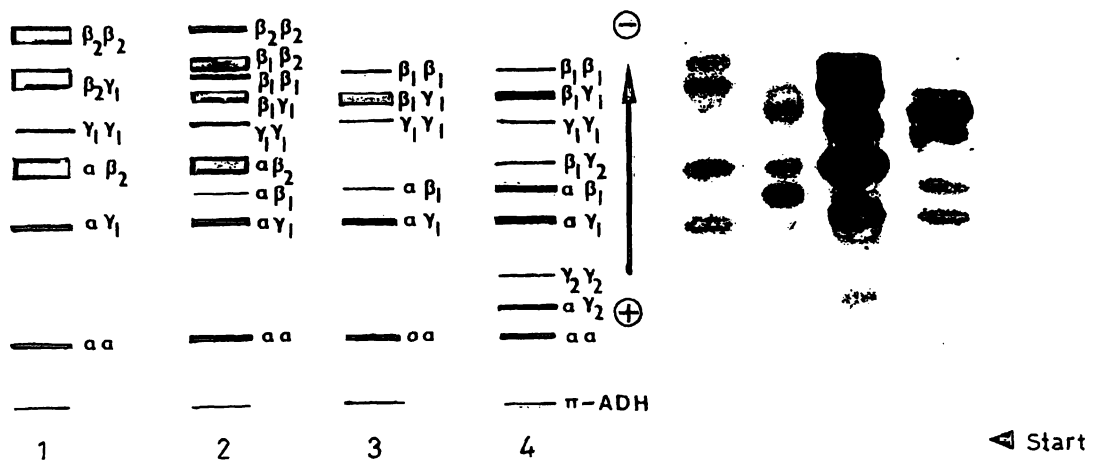


Abb. 3. Pherogramme und Schema menschlicher Leber-Alkoholdehydrogenase nach Stärkegelelektrophorese (Phänotypen der ADH₂ und ADH₃, s. Abb. oben).

gewiesen werden (25, 29). Die Alkoholdehydrogenase-Aktivitäten in Niere, Magen und Lunge sind vergleichsweise außerordentlich gering. Abbildung 4 zeigt einen Vergleich der Isoenzym-Banden in Haut, Leber und Fibroblasten. Während in Leberproben Isoenzym-Banden aus α , β und γ -Untereinheiten darstellbar sind, konnten in Haut und Fibroblasten nur β -Untereinheiten des ADH₂-Locus nachgewiesen werden.

Isoenzyme der Aldehyd-Dehydrogenase (Organspezifität und Polymorphismus)

Die NAD-abhängige Aldehyddehydrogenase des Menschen katalysiert die Oxidation verschiedener Aldehyde; über die Aldehyddehydrogenase in verschiedenen Säugtieren berichteten Blair & Bodley (38) und Weiner et al. (39). Bei der Untersuchung von Leberautopsiematerial

von Japanern konnten Stamatoyannopoulos et al. (35) nur zwei anodisch wandernde Aldehyddehydrogenase-Banden zeigen. Bezüglich der Aktivität der entsprechenden Proben zeigte sich keine Bimodalität. Zwei Isoenzyme der Aldehyddehydrogenase (Enzyme I und II) aus menschlicher Leber wurden von Greenfield & Pietruszko (40) gereinigt. Für Enzym I wurde ein Molekulargewicht von $M_r = 225000$, ein hoher K_m -Wert für NAD und ein niedriger für Acetaldehyd ermittelt; Enzym II hat ein Molekulargewicht von $M_r = 245000$, einen niedrigen K_m -Wert für NAD und einen relativ hohen für Acetaldehyd. Die Enzyme I und II setzen sich aus Untereinheiten mit einem Molekulargewicht von etwa 54000 zusammen; von Blair & Bodley (38) wurde eine Tetramerstruktur vorgeschlagen.

Eigene Untersuchungen führten zum Nachweis zweier weiterer Isoenzyme mit einem hohen K_m -Wert für

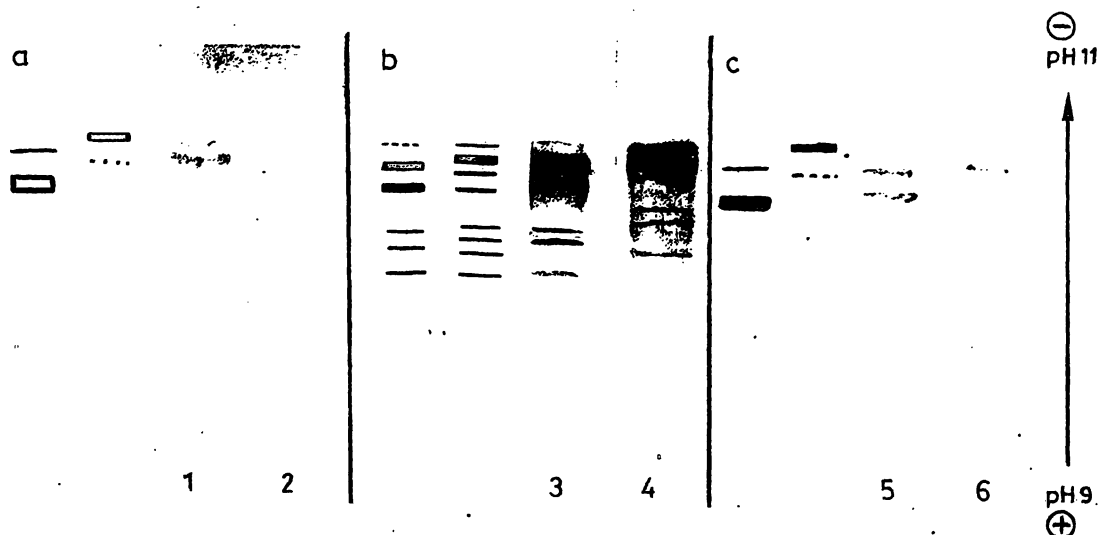


Abb. 4. Isoelektrofokussierung von Alkoholdehydrogenase-Isoenzymen aus Haut (a), Leber (b), Fibroblasten (c).

1: ADH₂ 2-1 (atypischer Phänotyp, $\beta_1\beta_2$),
2: ADH₂ 1-1 (normaler Phänotyp, $\beta_1\beta_1$),

3: ADH₂ 2-1, ADH₃ 2-1,
4: ADH₂ 1-1, ADH₃ 2-1,

5: ADH₂ 2-1,
6: ADH₂ 1-1.

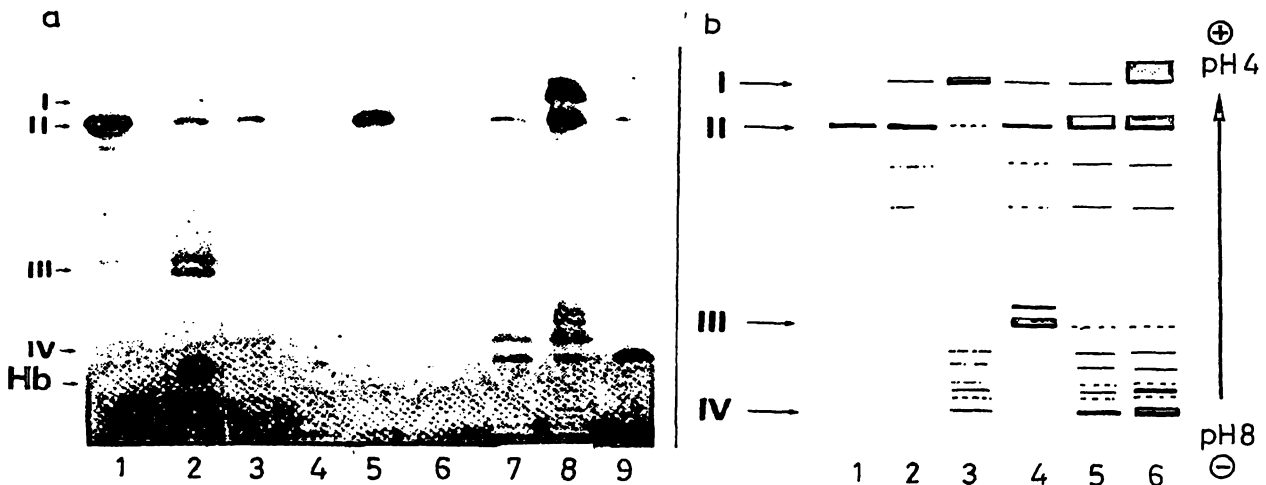


Abb. 5. (a): Isoelektrofokussierung von Aldehyddehydrogenase-Isoenzymen aus Magen (1), Lunge (2), Muskel (3), Herz (4), Darm (5), Haut (6), Niere (7), Leber (8), Erythrocyten (9). (b): Schema von Isoenzymmustern in verschiedenen Geweben: Erythrocyten (1), Darm, Muskel, Milz, Hirn (2), Herz (3), Lunge, Magen, Haut (4), Niere (5), Leber (6). Die Haupt-Aldehyddehydrogenase-Isoenzyme sind angezeigt durch I, II, III und IV.

Aldehyd, die auch in verschiedenen Organen vorkommen (41).

In Abbildung 5 sind die Isoenzymbanden von 8 verschiedenen Organen und der Haut nach Auftrennung durch isoelektrische Fokussierung miteinander verglichen. Leber und Niere weisen alle vier Isoenzyme (ALDH I–IV) auf, während in anderen Organen nicht immer alle Isoenzymbanden sichtbar sind (41).

Offensichtlich ist die Aktivität der einzelnen Isoenzyme in manchen Organen wesentlich niedriger als in Leber und Niere. Ein Vergleich mit den Isoenzymen aus Lymphocyten und Erythrocyten zeigt, daß in Lymphocyten nur die Isoenzyme ALDH I und II, in den Erythrocyten nur ALDH II zu beobachten sind. Daß entsprechend unseren Untersuchungen in Erythrocyten-Hämolyisaten ALDH I fehlt, könnte von genereller Bedeutung sein, da dieses Enzym eine hohe Affinität zum Acetaldehyd aufweist. In Serum und Thrombocyten konnten Aldehyddehydrogenase-Isoenzymbanden bisher nicht nachgewiesen werden. Andere Untersuchungen über Aldehyddehydrogenase in menschlichem Blut wurden von Inoué et al. (42) und Pietruszko & Vallari (43) durchgeführt, wobei letztere vier verschiedene Aldehyddehydrogenase-Banden beobachteten. Zur Charakterisierung wurden diese vier elektrophoretisch nachweisbaren Isoenzyme von uns durch präparative isoelektrische Fokussierung aufgetrennt und teilweise gereinigt (Abb. 6). ALDH I, II und IV wurden aus Lebern dargestellt, ALDH III aus Magen (44). Folgende Michaelis-Konstanten der Aldehyddehydrogenase-Isoenzyme I–IV wurden von uns ermittelt:

Substrat Propionaldehyd: 0,0035, 0,094, 0,93 und 1,4 mmol/l.

Substrat NAD: 0,065, 0,024, 0,028 und 0,049 mmol/l.

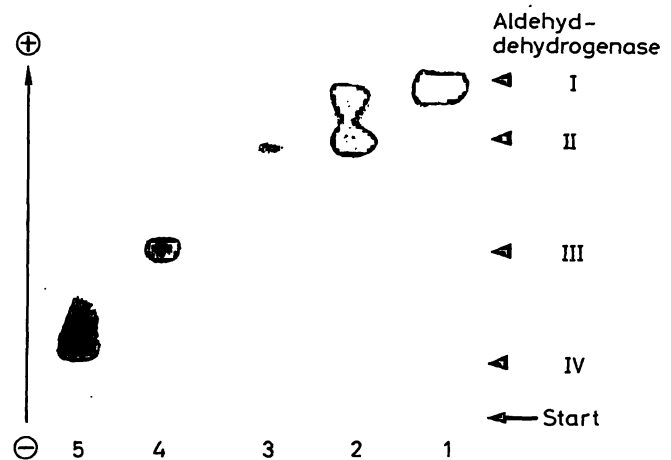


Abb. 6. Aldehyddehydrogenase-Isoenzyme (I–IV) nach Anreicherung mittels präparativer Isoelektrofokussierung. Nr. 2 ist eine Mischung aus den Isoenzymen I und II.

ALDH I zeigt also eine hohe, ALDH II eine niedere Affinität zum Propionaldehyd, die Affinitäten von ALDH III und ALDH IV sind extrem niedrig. Ähnliche Unterschiede wurden für das Substrat Acetaldehyd beobachtet. Die Verteilung der vier Isoenzyme in der Cytosolfraction von Leberhomogenaten ist etwa: ALDH I (45%), II (30%), III (2%), IV (7%). Über einen Polymorphismus der Aldehyddehydrogenase war bislang nichts bekannt. Bei einer Studie an etwa 80 Leberautopsieproben aus Deutschland konnten wir ebenfalls keine genetisch bedingten Varianten beobachten. Unsere neueren Untersuchungen an Leberautopsien von Japanern ließen jedoch interessanterweise einen Polymorphismus für das ALDH I-Isoenzym nachweisen (45). Dieser Aldehyddehydrogenase-Variante fehlt eine in der Elektrophorese schneller wandernde Hauptisoenzymbande, die eine hohe

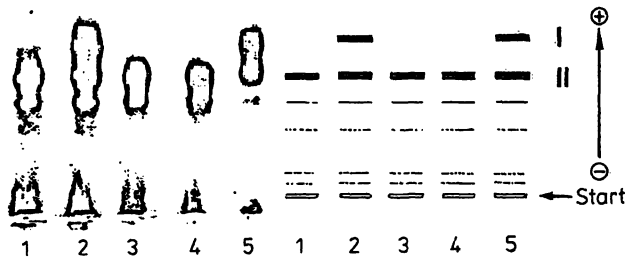


Abb. 7. Aldehyddehydrogenase-Isoenzymmuster nach Stärkegelelektrophorese und schematische Darstellung der Banden in Leberextrakten: japanisch (1–4), deutsch (5).

Affinität zum Acetaldehyd bedingt. Das Pherogramm der Abbildung 7 zeigt den normalen Phänotyp (Nr. 2, 5) und das variante ALDH-Isoenzymmuster (Nr. 1, 3, 4).

Phänotypisierung von Alkoholdehydrogenase und Aldehyddehydrogenase in Haarwurzelpollen

Genetische Studien über alkoholabbauende Enzyme des Menschen sind unter Verwendung der bisher geschilderten Ausgangsmaterialien nur sehr begrenzt möglich (46).

Bei der Untersuchung von Enzymvarianten als Ursache einiger seltener angeborener Stoffwechselstörungen wurde die Analyse von Haarwurzeln bereits angewandt (47).

Durch Entwicklung besonders sensibler Mikromethoden gelang es uns, Aktivität und Isoenzymmuster der Aldehyddehydrogenase in menschlichen Haarwurzeln nachzuweisen (82). Damit haben wir die Phänotypisierung an

größeren Stichproben von Populationen und Familien sowie die Bestimmung der Genfrequenzen durchgeführt. In Lysaten von Haarwurzeln (Abb. 8) – wie früher an Hautbiopsien und Fibroblasten demonstriert (46) – lassen sich nur β -Untereinheiten der Alkoholdehydrogenase (ADH) nachweisen, die durch den Locus ADH_2 kontrolliert sind. Inwieweit es möglich ist, einen Polymorphismus der Alkoholdehydrogenase in Haarwurzeln verschiedener Bevölkerungsgruppen mit unseren hochempfindlichen Methoden festzustellen, muß in weiteren Versuchen geklärt werden.

Aus Abbildung 9 ist ein Vergleich von Bandenmustern der ALDH nach Auftrennung von Extrakten aus Leber und Haarwurzeln mittels Isoelektrofokussierung ersichtlich: normale und variante Formen der Aldehyddehydrogenase sind erkennbar. In Leberproben lassen sich vier Isoenzyme (ALDH I–IV) nachweisen, wobei ALDH III jeweils nur eine schwache Bande zeigt; in Haarwurzelslysaten läßt sich das Isoenzym IV nicht nachweisen.

Formale Genetik der Alkoholdehydrogenase und Aldehyddehydrogenase (Familienuntersuchungen)

Über die Genetik der Alkoholdehydrogenase und Aldehyddehydrogenase ist nichts bekannt, da entsprechende Phänotypisierungen bisher nicht möglich waren. Mit den oben beschriebenen Methoden haben wir 11 deutsche Familien hinsichtlich des Alkoholdehydrogenase-Phänotyps untersucht und in 3 Familien die atypische Variante nachgewiesen. Eine atypische Aldehyddehydrogenase wurde bislang in deutschen Individuen nicht gefunden. Bei der Untersuchung von 5 japanischen und 8 vietnamesischen Familien wurden normale und variante Formen von Aldehyddehydrogen-

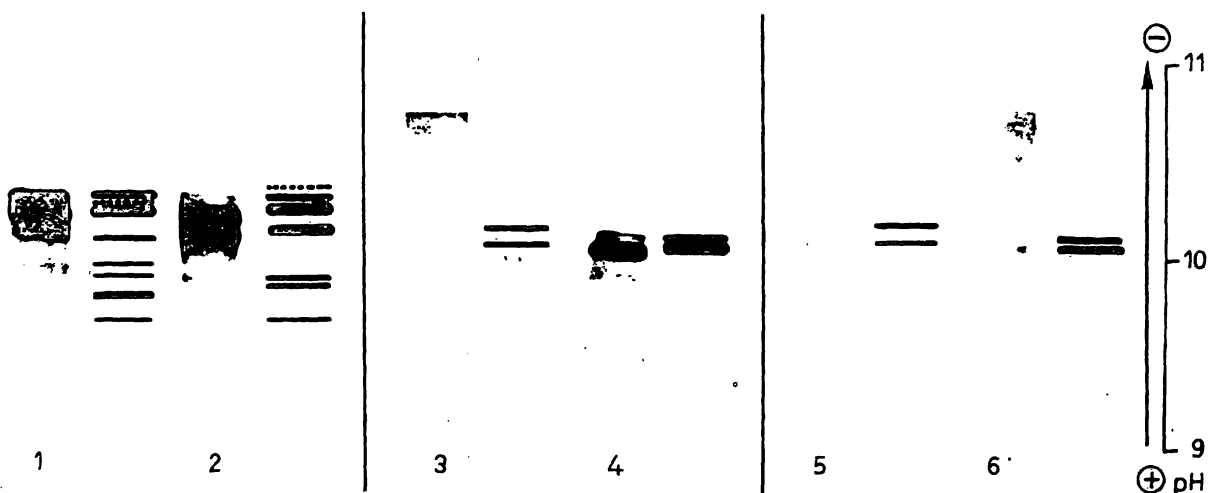


Abb. 8. Alkoholdehydrogenase-Isoenzymmuster nach Isoelektrofokussierung von Leberextrakten (1, 2), Fibroblasten (3, 4) bzw. Haarwurzelslysaten (5, 6).

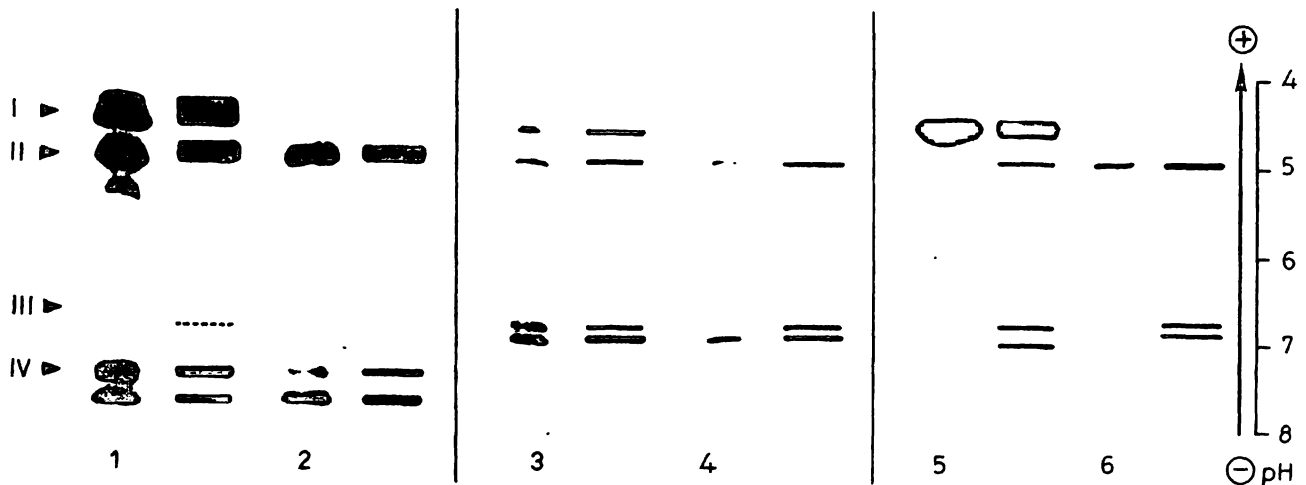


Abb. 9. Aldehyddehydrogenase-Isoenzymmuster in Leber (1, 2), Fibroblasten (3, 4) und Haarwurzeln (5, 6), dargestellt durch Isoelektrofokussierung. Phänotypen: 1, 3 und 5 normal, 2, 4 und 6 atypisch.

ase in verschiedenen Kombinationen gefunden. In Abbildung 10 wird anhand von Stammbäumen einer deutschen, einer japanischen und einer vietnamesischen Familie gezeigt, daß die entsprechenden Phänotypen von Aldehyddehydrogenase erblich sind. In verschiedenen japanischen, vietnamesischen und deutschen Familien wurde gleichzeitig eine Befragung bezüglich Alkoholunverträglichkeit und auftretender Flushing-Symptome durchgeführt. Abbildung 10B zeigt den Stammbaum einer repräsentativen japanischen Familie. Bei Familien mongoliden Ursprungs wurde immer nur dann eine entsprechende Empfindlichkeit beobachtet, wenn eine variante Form der Aldehyddehydrogenase (Fehlen des Isoenzyms I) vorlag. Individuen mit atypischer und normaler Aldehyddehydrogenase klagten nicht über Alkoholunverträglichkeitssymptome (82).

Populationsgenetische Unterschiede im Alkoholabbau

Über eine höhere Alkohol-Stoffwechselrate bei Chinesen, Japanern und nordamerikanischen Indianern im Vergleich zu Europiden wurde verschiedentlich berichtet (50–52). Für kanadische Eskimos und eine bestimmte

Gruppe amerikanischer Indianer wurde jedoch von *Fenna et al.* (53) eine signifikant langsamere Umsatzrate beschrieben (Tab. 1). Studien von *Ewing et al.* (54), *Bennion & Li* (55), *Marinovich et al.* (56) und *Schäfer et al.* (57) zeigten, daß sog. Aborigines aus Australien, bestimmte amerikanische Indianerstämme sowie Reddis aus Südindien Alkohol genau so schnell metabolisieren wie Europide, Mongolide und andere Orientale.

Allgemein übereinstimmend werden aber hinsichtlich Alkoholunverträglichkeit (Empfindlichkeit und Intoxikationsreaktionen) erhebliche Unterschiede zwischen europiden und mongoliden Populationen festgestellt (50, 54, 58, 59) (Tab. 2). In der mongoliden Bevölkerung werden bestimmte Symptome sehr viel häufiger beobachtet. Die Alkoholwirkung zeigt sich in verschiedenen physiologischen und subjektiven Beobachtungen wie Flushing, erhöhter Hauttemperatur, peripherer Vasodilatation, erhöhtem Herzrhythmus, Nausea, Magenbeschwerden etc. (Tab. 3) (3).

Eine Differenz bezüglich der Frequenzen der atypischen Alkoholdehydrogenase bei europiden und mongoliden Bevölkerungen wurde ebenfalls beschrieben (Tab. 4).

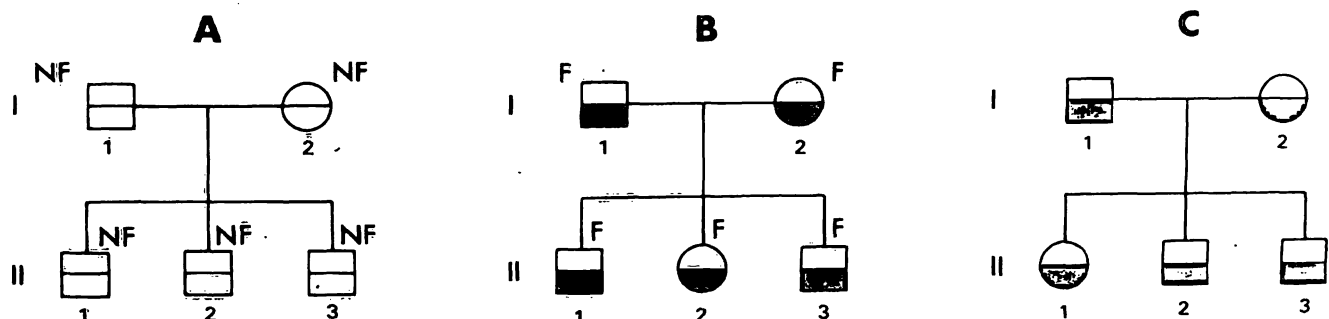


Abb. 10. Stammbäume einer deutschen (A), einer japanischen (B) und einer vietnamesischen (C) Familie mit Angaben der Phänotypen für Alkoholdehydrogenase und Aldehyddehydrogenase sowie der beobachteten Alkoholempfindlichkeit (flushing).

■ = typische Aldehyddehydrogenase
 ■ ■ = atypische Aldehyddehydrogenase
 F = flushing
 NF = non-flushing

Tab. 1. Alkoholabbaurate in verschiedenen Rassen und ethnischen Gruppen.

Gruppe	Stichprobe	Alkoholabbaurate (Eliminationsrate) (mg/kg · h)	Literatur
Euronide			
Amerikaner	17	112.08	<i>Farris & Jones, 1978 (51)</i>
Amerikaner	30	93.0	<i>Bennion & Li, 1976 (55)</i>
Kanadier	58	103.6	<i>Reed et al., 1976 (50)</i>
Kanadier	17	144.9	<i>Fenna et al., 1971 (53)</i>
Kanadier	37	103.6	<i>Reed et al., 1976 (50)</i>
Amerikaner	24	146.0	<i>Ewing et al., 1974 (54)</i>
Europäer	68	108.0	<i>Hanna, 1978 (52)</i>
Europäer	25	96.6	<i>Goldberg, 1943 (69)</i>
Europäer	53	88.0	<i>Coldwell & Smith, 1959 (70)</i>
Nordamerikanische Indianer			
	26	101.3	<i>Fenna et al., 1971 (53)</i>
	30	92.0	<i>Bennion & Li, 1976 (55)</i>
	12	182.7	<i>Reed et al., 1976 (50)</i>
	17	122.98	<i>Farris & Jones, 1978 (51)</i>
Kanadische Eskimos	21	109.8	<i>Fenna et al., 1971 (53)</i>
Asiatische Orientalen			
Chinesen	15	136.6	<i>Reed et al., 1976 (50)</i>
Chinesen, Japaner, Koreaner & Taiwaner	24	146.0	<i>Ewing et al., 1974 (54)</i>
Hindu Reddis	35	122.9	<i>Schaefer, 1978 (57)</i>
Japaner	335	110–140	<i>Mizoi, 1976 (71)</i>
Chinesen	39	127	<i>Hanna, 1978 (52)</i>
Japaner	47	133	<i>Hanna, 1978 (52)</i>

Tab. 3. Subjektive Symptome nach Alkoholgenuß bei europiden und mongoliden Bevölkerungen (nach Wolff, (3)).

Symptom	Europide (n = 34)		Mongolide (n = 78)	
	Zahl	%	Zahl	%
Sodbrennen	2	5.8	41	52.5*
Tachykardie	1	2.9	34	43.5*
Muskelschwäche	1	2.9	20	25.7**
Schwindelgefühl	3	8.6	24	37.2**
Müdigkeit	2	5.8	26	33.4**
Schlaf	—	—	4	18.0**

* p = 0.001

** p = 0.01

Eigene Studien an Bevölkerungen aus Deutschland, Japan und Vietnam (Chinesen) zeigten, daß der normale Alkoholdehydrogenase-Phänotyp in der deutschen Bevölkerung zu etwa 80–90% vorkommt, der atypische zu 10–20%; die Verhältnisse liegen bei Japanern und Vietnamesen etwa umgekehrt. Hier tritt zu etwa 85% der für europide Bevölkerungen als atypisch bezeichnete Phänotyp auf. Hinsichtlich der Aldehyddehydrogenase ergab sich durch die Analyse von Haarwurzeln, daß Individuen europäischer Herkunft bisher nur den sog. nor-

Tab. 2. Alkoholempfindlichkeit („facial flushing“) in verschiedenen Populationen.

Gruppe	Häufigkeit der Empfindlichkeit (%)	Literatur
Europide	4	<i>Wolff, 1973 (4)</i>
Europide	10	<i>Zeiner et al., 1979 (65)</i>
Europide (amerikanischen oder europäischen Ursprungs)	12	<i>Ewing et al., 1974 (54)</i>
Amerikanische Indianer	50	<i>Wolff, 1973 (4)</i>
Amerikanische Mongolide	80	<i>Wolff, 1973 (4)</i>
Amerikanische Mongolide mit halb-europider Abstammung	90	<i>Wolff, 1973 (4)</i>
Orientalen	70	<i>Ewing et al., 1974 (54)</i>
Hapa Haoie (gemischte Bevölkerung aus Chinesen, Japanern, Hawaiiern und Europiden)	60	<i>Wilson et al., 1978 (59)</i>
Japaner, Taiwaner, Koreaner	83	<i>Wolff, 1972 (3)</i>
Japaner	85	<i>Morikawa et al., 1968 (72)</i>
Japaner	58	<i>Mizoi et al., 1979 (66)</i>
Chinesen	57	<i>Zeiner et al., 1979 (65)</i>
Vietnamesen, Japaner	60	<i>Goedde et al., 1980 (82)</i>

Tab. 4. Häufigkeit der atypischen Leber-Alkoholdehydrogenase in verschiedenen ethnischen Gruppen.

Ethnische Gruppen	Alkoholdehydrogenase (% atypisch)	Literatur
Schweizer	20	<i>von Wartburg & Schürch, 1968 (33)</i>
Engländer	5	<i>Edwards & Evans, 1967 (68)</i>
Engländer	10	<i>Smith et al., 1971 (24)</i>
Deutsche	8.7	<i>Käferstein et al., 1976 (73)</i>
Deutsche	14	<i>Schulz et al., 1976 (74)</i>
Deutsche	9	<i>Harada et al., 1978 (36)</i>
Bahias (Brasilien)	2.8	<i>Azevedo et al., 1975 (75)</i>
Japaner	88	<i>Fukui & Wakasugi, 1972 (34)</i>
Japaner	98	<i>Ogata & Mizohata, 1973 (76)</i>
Japaner	85	<i>Stamatoyannopoulos et al., 1975 (35)</i>
Japaner	85	<i>Harada et al., 1978 (36)</i>
Chinesen (Malaya)	89	<i>Teng et al., 1979 (77)</i>
Inder (Malaya)	0	<i>Teng et al., 1979 (77)</i>
Vietnamesen	86	(unveröffentlichte eigene Versuche)

malen Phänotyp, der durch die Isoenzyme ALDH I und II charakterisiert ist, aufweisen. In mongoliden Populationen wird zu etwa 50% der atypische Phänotyp, der nur das ALDH II Isoenzym aufweist, beobachtet.

Tag-Nacht-Rhythmus der Alkoholdehydrogenase- und Aldehyddehydrogenase-Aktivitäten

Der Rhythmus der Ethanol-Elimination beim Menschen scheint inter-individuell stark zu variieren (60). Bei Alkoholikern wurde abends gegenüber nachmittags eine schnellere Metabolisierungsrate nachgewiesen (61). Durch zusätzlich vorhandene Rassenunterschiede in der Alkoholabbaurate werden tageszeitliche Veränderungen weiter kompliziert (62). Unsere eigenen Untersuchungen (63) an Alkoholdehydrogenase und Aldehyddehydrogenase der Rattenleber ergaben keine signifikanten tagesrhythmischen Schwankungen der Alkoholdehydrogenase-Aktivität. Der Licht-Dunkel-Wechsel erwies sich jedoch als wichtiger Zeitgeber für die Aldehyddehydrogenase: durch mehrwöchige Lichtinversion wurde ein vollständig neues Rhythmus-Muster erzeugt und der Tagesmittelwert der Enzymaktivität fiel um etwa 30% ab.

Hypothese zur Ursache der unterschiedlichen Alkoholempfindlichkeit verschiedener Rassen

Die als „Flushing syndrome“ bezeichnete starke Gesichtsrötung als Reaktion auf Alkoholgenuß wird in mongoliden Populationen zu über 50% beobachtet, bei europiden Populationen nur in äußerst seltenen Fällen (3, 50, 64). Bekanntlich wird diese Empfindlichkeit vor allem dem entstehenden Acetaldehyd zugeschrieben (8, 10), aber auch eine schnellere Absorptionsrate des Alkohols bei Chinesen und amerikanischen Indianern (51, 65) wie auch Unterschiede in der Clearance-Rate des Acetaldehyds wurden dafür verantwortlich gemacht (2, 65, 66). *Stamatoyannopoulos et al.* (35) wiesen in Japanern das Vorkommen einer atypischen Alkoholdehydrogenase zu 85% nach und postulierten – ebenso wie *von Wartburg* (67) –, daß die schnellere Oxidation von Ethanol zu Acetaldehyd durch atypische Alkoholdehydrogenase Intoxikationsreaktionen nach Alkohol hervorrufen würde. Frühere Untersuchungen von *Edwards & Price-Evans* (68) zeigten jedoch keine signifikante Differenz der Alkoholumsetzung zwischen Personen mit normaler und atypischer Alkoholdehydrogenase. Auch *Mizoi et al.* (66) beobachteten keinen Unterschied in der Eliminationsrate des Alkohols bei Personen mit oder ohne Flushing-Symptomen – obwohl die Acetaldehyd-Blutkonzentration in Personen mit Flushing

außerordentlich stark erhöht war. Aufgrund dieser Befunde scheint eine höhere Umsetzungsrate des Alkohols durch eine atypische Alkoholdehydrogenase *allein* keine Erklärung zu geben (48). Außerdem wird die atypische Alkoholdehydrogenase bei Japanern zu etwa 85% (s. Tab. 4), „Flushing“ aber in einer niedrigeren Größenordnung beobachtet.

Auch die Frequenz der varianten Form der Aldehyddehydrogenase liegt bei Japanern und allgemein bei Mongoliden bei etwa 50% (Tab. 5) (82). Individuen, denen das Isoenzym ALDH I fehlt, haben eine geringere Gesamtaktivität der Aldehyddehydrogenase; diese zeigt aber auch eine geringere Affinität zum Acetaldehyd. Sie sind für längere Zeit einer höheren Blutacetaldehyd-Konzentration ausgesetzt, da dessen Oxidation nur durch das mit geringerer Affinität bzw. Aktivität ausgestattete Isoenzym ALDH II erfolgt. Daher ist sehr wahrscheinlich, daß die durch Fehlen des Isoenzym ALDH I bedingte, verzögerte Oxidation des Acetaldehyds – und nicht dessen erhöhte Produktion durch eine atypische Alkoholdehydrogenase – vornehmlich für eine Empfindlichkeit bei Alkoholgenuß verantwortlich ist (48). Es besteht allerdings die Möglichkeit, daß Individuen mit ALDH I-Mangel und atypischer Alkoholdehydrogenase besonders starke Intoxikationssymptome nach Alkoholgenuß aufweisen könnten. Die Hauptursache scheint jedoch im Aldehyddehydrogenase-Polymorphismus zu liegen.

Unsere Hypothese, daß eine Prädisposition für Alkoholempfindlichkeit (z. B. Flushing) auf den Phänotyp zurückzuführen ist, der ein Fehlen des Isoenzym ALDH I zeigt, wurde auch durch Familien-Untersuchungen unterstützt (82). Untersuchungen an Haarwurzelsätsen von Japanern und Deutschen ergaben verschiedene Kombinationen von Alkoholdehydrogenase- und Aldehyddehydrogenase-Phänotypen. Gleichzeitig wurde festgestellt, daß nur bei Individuen mit der varianten Form der Aldehyddehydrogenase Alkoholempfindlichkeit beobachtet wurde. Da bei Europiden bislang dieser Phänotyp nicht beobachtet wurde, zeigten sich diese Zusammenhänge nur bei Japanern und anderen mongoliden Populationen (82). Diese Übereinstimmung zwischen Aldehyddehydrogenase-Phänotyp und Flushing konnten wir auch bei verschiedenen japanischen und vietnamesischen Familien zeigen; ein Beispiel ist in Abbildung 10

Tab. 5. Phänotypenkombination von Alkoholdehydrogenase (ADH) und Aldehyddehydrogenase (ALDH) in Autopsie-Leberproben von 40 Japanern.

Phänotypen-kombination	ADH typisch	ALDH typisch	ADH typisch	ALDH atypisch	ADH atypisch	ALDH typisch	ADH atypisch	ALDH atypisch	Gesamtzahl
Zahl der Kombinationen		3		3		16		18	40
Anteil an der gesamten Stichprobe (%)		7,5		7,5		40		45	100%

Alkoholdehydrogenase typisch = 15%; Aldehyddehydrogenase typisch = 47,5%
 Alkoholdehydrogenase atypisch = 85%; Aldehyddehydrogenase atypisch = 52,5%

gegeben. Die durch Haarwurzelanalyse ermöglichten Befunde stärken unsere Hypothese zur Ursache einer unterschiedlichen Alkoholempfindlichkeit in verschiedenen Rassen (48, 78). In vivo-Untersuchungen zur Kinetik des Alkoholabbaus, der Entstehung von Acetaldehyd sowie dessen Abbau-Kinetik bei Japanern, Koreanern, Vietnamesen, Chinesen und Deutschen – deren Phänotyp bezüglich der Aldehyddehydrogenase vorher bestimmt worden war – scheinen zu bestätigen, daß eine höhere „steady-state“-Konzentration von Blutacetaldehyd sowie Flushing im Zusammenhang mit anderen vasomotorischen Symptomen nur in solchen Personen beobachtet wird, deren Haarwurzelanalyse eine atypische Aldehyddehydrogenase ergeben hatte (79, 80).

Versuche zum Alkoholstoffwechsel bei Alkoholikern

Untersuchungen zur Alkoholkrankheit (Alkoholismus) an Lysaten aus Haarwurzeln und in Hämolysaten von etwa 100 Alkoholikern europäischer Abstammung im Vergleich zu gesunden Kontrollen deuten zunächst nur auf quantitative Unterschiede bezüglich beider Alkohol-metabolisierender Enzyme hin. Aktivitätsmessungen bei pH 10.8 ergaben für Alkoholdehydrogenase eine signifikant niedrigere spezifische Aktivität bei Alkoholikern. Bezüglich der Aldehyddehydrogenase wurden nach isoelektrischer Fokussierung beide Isoenzyme, ALDH I und ALDH II, in Haarwurzellysaten nachgewiesen und bislang keine quantitativen und qualitativen Unterschiede zu Kontrollen festgestellt (81, 82). Nach isoelektrischer Fokussierung von Hämolysaten wurde nur die ALDH II-Isoenzym-Bande beobachtet; diese trat jedoch bei Alkoholikern außerordentlich viel schwächer auf (Abb. 11). Dieses Enzym hat bekanntlich eine geringere Affinität zum Acetaldehyd und scheint nach starkem Alkoholgenuß von besonderer Bedeutung für die Eliminierung erhöhter Blutacetaldehyd-Konzentra-



Abb. 11. Auftrennung der Aldehyddehydrogenase-Isoenzyme mit Hilfe der Isoelektrofokussierung. (1) Leber, (2) Haarwurzeln, (3) Erythrocyten, (4) Erythrocyten. * = Alkoholiker.

tionen zu sein. Untersuchungen über eine exakte Quantifizierung dieser ALDH II-Bande in Erythrocyten von Alkoholikern im Vergleich zu Kontrollen unter Verwendung densitometrischer Methoden sowie Studien an sog. Alkoholiker-Familien bezüglich der Alkoholdehydrogenase- und Aldehyddehydrogenase-Phänotypen werden z. Z. von uns durchgeführt.

Da Leber die höchste Alkoholdehydrogenase-Aktivität besitzt, könnte das Auftreten dieses Enzyms im Serum auf Leberschäden hinweisen. Mit Hilfe einer einfachen und hochempfindlichen Methode (Skursky et al., 1979) haben wir die Alkoholdehydrogenase-Aktivität im Serum gemessen. Unsere vorläufigen Ergebnisse an gesunden Blutspendern zeigten eine Korrelation zwischen Alkoholdehydrogenase-Aktivität und Alaninaminotransferase-Aktivität im Plasma. Weiterhin ist geplant, mit Hilfe dieser Methode Untersuchungen bei Patienten mit chronischem und akutem Alkoholismus durchzuführen.

Danksagung

Wir danken der Stiftung Volkswagenwerk, Hannover, für großzügige Unterstützung unserer Arbeit.

Literatur

- Vesell, E. S. (1972), Ann. N.Y. Acad. Sci. 197, 79–88.
- Reed, T. E. (1978), Alc. Clin. Exp. Res. 2, 83–87.
- Wolff, P. H. (1972), Science 175, 449–450.
- Wolff, P. H. (1973), Am. J. Hum. Genet. 25, 449–450.
- Goodwin, D. W., Schulsinger, F. & Möller, N. (1974), Arch. Gen. Psychiat. 31, 164–169.
- Schuckit, M. A., Goodwin, D. W. & Winokur, G. (1972), Amer. J. Psychiat. 128, 122–126.
- Cruz-Coke, R. (1971), Biological Basis of Alcoholism (Israel, Y. & Mardones, J. eds.), pp. 335–365. John Wiley and Sons, New York.
- Korsten, M. A., Matsuzaki, S., Feinman, L. & Lieber, C. S. (1975), N. Engl. J. Med. 292, 386–389.
- Raskin, N. H. (1975), N. Engl. J. Med. 292, 422–423.
- Davis, V. E. & Walsh, M. J. (1970), Science 167, 1005–1007.
- Truitt, E. B. (1971), Biological Aspects of Alcohol, pp. 212–216. Univ. of Texas Press, Austin.
- Tewari, S. & Noble, E. P. (1979), Biochem. Pharmacol. of Ethanol, pp. 541–548. Plenum Press, New York.
- Majchrowicz, E. (1965), Can. J. Biochem. 43, 1041–1045.
- Duritz, G. & Truitt, E. B. (1966), Biochem. Pharmacol. 15, 711–721.
- Alivisatos, S. G. A. & Arora, R. C. (1975), Adv. Exp. Med. Biol. 5, 255–289.
- Jeffcoate, W. J., Herbert, M., Cullen, M. H., Hastings, A. G. & Walder, C. P. (1979), Lancet II, 1157–1159.
- Asmussen, E., Hald, J. & Larsen, V. (1948), Acta Pharmacol. Toxicol. (Kbh) 4, 311–320.
- Truitt, E. B. & Walsh, M. J. (1971), The biology of alcoholism (Kissin, B. & Begleiter, H. eds.) Vol. 1, pp. 161–195. Plenum Press, N.Y.
- Goedde, H. W. (1963), Int. Z. Vitaminforsch. 33, 18–40.
- Teschke, R., Matsuzaki, S., Ohnishi, K., de Carli, L. M. & Lieber, C. S. (1977), Alc. Clin. Exp. Res. 1, 7–15.
- Thurman, R. G. & Brentzel, H. J. (1977), Alc. Clin. Exp. Res. 1, 33–38.
- Orme-Johnson, W. H. & Ziegler, D. M. (1965), Biochem. Biophys. Res. Commun. 21, 78–82.

23. Teschke, R., Hasumura, Y. & Lieber, C. S. (1975), *J. Biol. Chem.* **250**, 7397–7404.
24. Smith, M., Hopkinson, D. A. & Harris, H. (1971), *Ann. Hum. Genet.* **34**, 251–278.
25. Smith, M., Hopkinson, D. A. & Harris, H. (1972), *Ann. Hum. Genet.* **35**, 243–253.
26. Schenker, T. M., Teeple, L. J. & von Wartburg, J. P. (1971), *Eur. J. Biochem.* **24**, 271–279.
27. Murray, R. F. Jr. & Motulsky, A. G. (1971), *Science* **171**, 71–72.
28. Pietruszko, R., Theorell, H. & de Zalenski, C. (1972), *Arch. Biochem. Biophys.* **153**, 279–293.
29. Jörnvall, H. & Pietruszko, R. (1972), *Eur. J. Biochem.* **25**, 283–290.
30. Smith, M., Hopkinson, D. A. & Harris, H. (1973), *Ann. Hum. Genet.* **37**, 49–67.
31. Smith, M., Hopkinson, D. A. & Harris, H. (1973), *Ann. Hum. Genet.* **37**, 41–48.
32. von Wartburg, J. P., Papenberg, J. & Aebi, H. (1965), *Can. J. Biochem.* **43**, 889–898.
33. von Wartburg, J. P. & Schürch, P. M. (1968), *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **151**, 936–946.
34. Fukui, M. & Wakasugi, C. (1972), *Jpn. J. Leg. Med.* **26**, 46–51.
35. Stamatoyannopoulos, G., Chen, S. H. & Fukui, F. (1975), *Amer. J. Hum. Genet.* **27**, 789–796.
36. Harada, S., Agarwal, D. P. & Goedde, H. W. (1978), *Hum. Genet.* **40**, 215–220.
37. Li, T. K. & Magnes, L. J. (1975), *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **63**, 202–208.
38. Blair, A. H. & Bodley, F. H. (1975), *Can. J. Biochem.* **47**, 265–272.
39. Weiner, H., King, P., Hu, J. H. J. & Bensch, W. R. (1974), *Alcohol and aldehyde metabolizing systems*, pp. 101–113. Academic Press, Inc. N.Y. and London.
40. Greenfield, N. J. & Pietruszko, R. (1977), *Biochim. Biophys. Acta* **483**, 35–45.
41. Harada, S., Agarwal, D. P. & Goedde, H. W. (1978), *Hum. Genet.* **44**, 181–185.
42. Inoué, K., Ohbora, Y. & Yamasawa, K. (1978), *Life Sci.* **23**, 179–184.
43. Pietruszko, R. & Vallari, R. C. (1978), *FEBS Lett.* **92**, 89–91.
44. Harada, S., Agarwal, D. P. & Goedde, H. W. (1980), *Life Sci.* **26**, 1773–1780.
45. Harada, S., Misawa, S., Agarwal, D. P. & Goedde, H. W. (1980), *Am. J. Hum. Genet.* **32**, 8–15.
46. Goedde, H. W., Harada, S. & Agarwal, D. P. (1979), *Clin. Genet.* **16**, 29–33.
47. Nwokoro, N. & Neufeld, E. F. (1979), *Am. J. Hum. Genet.* **3**, 42–49.
48. Goedde, H. W., Harada, S. & Agarwal, D. P. (1979), *Hum. Genet.* **51**, 331–334.
49. Zeiner, A. R., Paredes, A. & Cowden, L. (1976), *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **273**, 151–158.
50. Reed, T. E., Kalant, H., Gibbins, R. T., Kapur, B. M., Ranks, J. G. (1976), *Can. Med. Assoc. J.* **115**, 851–855.
51. Farris, J. J. & Jones, B. M. (1978), *Alc. Clin. Exp. Res.* **2**, 77–82.
52. Hanna, J. M. (1978), *Alc. Clin. Exp. Res.* **2**, 89–92.
53. Fenna, D., Mix, L., Schaeffer, O. & Gilbert, J. A. L. (1971), *Can. Med. Ass. J.* **105**, 472–475.
54. Ewing, J. A., Rouse, B. A. & Pellizzari, E. D. (1974), *Amer. J. Psychiat.* **131**, 206–210.
55. Bennion, L. J. & Li, T. K. (1976), *N. Engl. J. Med.* **294**, 9–13.
56. Marinovich, N., Larsson, O. & Barber, K. (1976), *Med. J. Aust. (Suppl.)* **1**, 44–46.
57. Schaeffer, J. M. (1978), *Alc. Clin. Exp. Res.* **2**, 61–69.
58. Ijiri, I. (1974), *Jpn. J. Stud. Alcohol* **9**, 35–59.
59. Wilson, J. R., McClearn, G. E. & Johnson, R. C. (1978), *Drug Alcohol Depend.* **3**, 147–151.
60. Sturtevant, F. M. (1976), *Chronobiologica* **3**, 237–262.
61. Jones, B. M. & Paredes, A. (1974), *Brit. J. Addict.* **69**, 3–10.
62. Zeiner, A. R. & Paredes, A. (1978), *Alc. Clin. Exp. Res.* **2**, 71–75.
63. Püschel, K., Adam, G., Agarwal, D. P. & Goedde, H. W. (1980), *Gerichtsmedizin* **38**, 144–146.
64. Kalant, H. (1971), *The Biology of Alcoholism*, Vol. 1, New York, Plenum Press, pp. 1–32.
65. Zeiner, A. R., Paredes, A. & Christensen, D. H. (1979), *Alc. Clin. Exp. Res.* **3**, 11–18.
66. Mizoi, Y., Ijiri, I. & Tatsuno, Y. (1979), *Pharm. Biochem. Behavior* **10**, 303–311.
67. von Wartburg, J. P. (1979), *Bull. Schweiz. Acad. Med. Wiss.* **35**, 163–171.
68. Edwards, J. A. & Evans, D. A. P. (1967), *Clin. Pharmacol. Ther.* **8**, 824–829.
69. Goldberg, L. (1943), *Acta Physiol. Scand. (Suppl.)* **16**, 1–128.
70. Coldwell, B. B. & Smith, H. (1959), *Can. J. Biochem.* **37**, 43–52.
71. Mizoi, Y. (1976), *Jpn. J. Alcohol Stud.* **30**, 137–168.
72. Morikawa, Y., Matsuzaki, J. & Kuratzune, M. (1968), *Nature (London)* **220**, 186–188.
73. Käferstein, H., Berghaus, G. & Dettmer, J. (1976), *Blut-alkohol* **13**, 144–155.
74. Schulz, W., Kreuzberg, S., Neumeyer, H. G., Schwarz, U. & Pachaly, A. (1976), *Kriminalistik und forensische Wissenschaften* **26**, 109–111.
75. Azevêdo, E. S., Olimpio da Silva, C. B. & Tavares-Neto, J. (1975), *Ann. Hum. Genet. (London)* **39**, 321–327.
76. Ogata, S. & Mizohata, M. (1973), *Jpn. J. Stud. Alcohol* **8**, 33–44.
77. Teng, Y. S., Jehan, S. & Lie-Injo, L. E. (1979), *Hum. Genet.* **53**, 87–90.
78. Agarwal, D. P., Harada, S. & Goedde, H. W. (1981), *Alc. Clin. Exp. Res.* (im Druck).
79. Machbert, G., Geldmacher-von Mallinckrodt, M., Agarwal, D. P., Harada, S. & Goedde, H. W. (1980), unveröffentlichte Ergebnisse.
80. Harada, S., Agarwal, D. P. & Goedde, H. W. (1980), 5th Biennial International Symposium on Alcoholism, Cardiff, Wales.
81. Agarwal, D. P., Harada, S., Schrappe, O. & Goedde, H. W. (1980), *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **361**, 212.
82. Goedde, H. W., Agarwal, D. P. & Harada, S. (1980), *Enzyme* **25**, 281–286.

Prof. Dr. H. Werner Goedde
Priv. Doz. Dr. Dharam P. Agarwal
Institut für Humangenetik der Universität Hamburg
Butenfeld 32
D-2000 Hamburg 54

